

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

9T

09/83/335
Translation
500

| | | |
|---|---|---|
| Applicant's or agent's file reference ST 98036 | FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416) | |
| International application No. PCT/FR99/02752 | International filing date (day/month/year) 09 November 1999 (09.11.99) | Priority date (day/month/year) 09 November 1998 (09.11.98) |
| International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N 15/861 | | |
| Applicant AVENTIS PHARMA S.A. | | |

| | |
|---|---|
| 1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36. | |
| 2. This REPORT consists of a total of <u>7</u> sheets, including this cover sheet. | |
| <input checked="" type="checkbox"/> | This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT). |
| These annexes consist of a total of <u>3</u> sheets. | |
| 3. This report contains indications relating to the following items: | |
| I <input checked="" type="checkbox"/> | Basis of the report |
| II <input type="checkbox"/> | Priority |
| III <input type="checkbox"/> | Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability |
| IV <input type="checkbox"/> | Lack of unity of invention |
| V <input checked="" type="checkbox"/> | Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement |
| VI <input type="checkbox"/> | Certain documents cited |
| VII <input checked="" type="checkbox"/> | Certain defects in the international application |
| VIII <input checked="" type="checkbox"/> | Certain observations on the international application |

| | |
|--|--|
| Date of submission of the demand 16 May 2000 (16.05.00) | Date of completion of this report 20 February 2001 (20.02.2001) |
| Name and mailing address of the IPEA/EP | Authorized officer |
| Facsimile No. | Telephone No. |

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/FR99/02752

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of *(Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.)*:

☐ the international application as originally filed.

☒ the description, pages 1-28, as originally filed,
pages _____, filed with the demand,
pages _____, filed with the letter of _____,
pages _____, filed with the letter of _____.

☒ the claims. Nos. _____, as originally filed,
Nos. _____, as amended under Article 19,
Nos. _____, filed with the demand,
Nos. 1-19, filed with the letter of 24 November 2000 (24.11.2000),
Nos. _____, filed with the letter of _____.

☒ the drawings. sheets/fig 1/7-7/7, as originally filed,
sheets/fig _____, filed with the demand,
sheets/fig _____, filed with the letter of _____,
sheets/fig _____, filed with the letter of _____.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

☐ the description. pages _____

☐ the claims. Nos. _____

☐ the drawings. sheets/fig _____

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/FR 99/02752

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of *(Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.)*:

This report has also been established on the basis of
pages 1 to 3 of the sequence listing (SEQ ID NO: 1).

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/FR 99/02752

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

| | | | |
|-------------------------------|--------|-----------------------|-----|
| Novelty (N) | Claims | 9, 11, 14-15, 18-19 | YES |
| | Claims | 1-8, 10, 12-13, 16-17 | NO |
| Inventive step (IS) | Claims | | YES |
| | Claims | 1-19 | NO |
| Industrial applicability (IA) | Claims | 1-19 | YES |
| | Claims | | NO |

2. Citations and explanations

Reference is made to the following documents:

D1: Cancer Research

Vol. 57, 1997, pages 3339-3343

D2: US 5 650 298 A

D3: Neuroreport

Vol. 7, 1996, pages 1655-1659

D4: WO 97 20463 A

1. Novelty:

- D2 describes a tetracycline-regulated expression system to be inserted into an eukaryotic cell by means of homologous recombination (Claim 11). The tTA transactivator is thus under the spatial and temporal control of the target gene promoter, for example, the β -actin promoter (column 23, line 2). A transcriptional terminator is located downstream (Claim 14), after which, in the same

orientation, there is a gene of interest under the control of a minimal hCMV promoter and tetO sequences (Figure 13). This construction can be used in gene therapy in the form of a kit (column 27) for, for example, the controlled synthesis of human tyrosine hydroxylase (Claims 23 and 24).

- The subject matter of Claims 1-8, 10, 12-13 and 16-17 is anticipated by that of D2. As a result, Claims 1-8, 10, 12-13 and 16-17 do not fulfil the requirements of PCT Article 33(2).

2. Inventive step:

- D2 does not explicitly describe the specific construction described in Claim 9, a viral vector containing such expression systems (Claim 11) or the use thereof in nerve cells (Claims 14-15 and 18-19). It follows that Claims 9, 11, 14-15 and 18-19 are novel (PCT Article 33(2)).
- However, said claims do not fulfil the requirements of PCT Article 33(3), as they do not involve an inventive step.
- D1 describes a novel tetracycline-regulated vector expression system having a broad spectrum of hosts (page 3342, first paragraph of the Discussion). The advantage of said system is that it is carried by a single adenovirus plasmid and leads to synthesis of a smaller amount of the tTA transactivator (page 3340, first paragraph of the Results) which, at high levels, is toxic to the cell. For this, the tTA gene is placed under

the control of a modified hCMV viral promoter, that is, a promoter having lower transcriptional activity than the native promoter (page 3340, Figure 1). Downstream, the construction has a polyadenylation sequence as a terminator (page 5, lines 14-20) after which, in the same orientation, there is a gene of interest under the control of a minimal hCMV promoter and the tTA transactivator (tetO) binding sites. Eukaryotic (hematopoietic, spinal cord, etc.) cells that are infected with a recombinant adenovirus synthesise the polypeptide of interest, for example, a cytokine (page 3341, Figure 2). Administering a dose rate of 100 ng/ml of tetracycline leads to the reversible repression of this synthesis. This system has potential uses in gene therapy, for example, in the treatment of cancer (page 3339, the Abstract).

- D3 describes the productive tetracycline-dependent expression of luciferase in rat neural cells. The construction comprises the tTA transactivator under the control of the hCMV strong viral promoter as well as the luciferase reporter gene under the control of a minimal hCMV promoter and 7 tetO sequences, with the two transcription units being separated by a UMS sequence and oriented in the same direction (page 1656, Figure 1). This technique has potential uses for the expression of therapeutic genes in the central nervous system (page 1665, the abstract). However, the authors have indicated that the present construction has one disadvantage ("shut down of gene expression),

probably related to the use of the hCMV viral promoter to control the transcription of the tTA transactivator (page 1658, the Discussion).

- In relation to D3, which is considered to be the closest prior art, the contribution of the present application is the use of an alternative promoter controlling tTA expression in an expression system for use in nerve cells.
- D1 has already recommended reducing the expression of the tTA transactivator by, for example, placing it under the control of the attenuated hCMV promoter.
- D3 has already mentioned the problem of using a viral promoter such as hCMV in nerve cells.
- In light of D1 and D3, it would have been obvious to select a moderate non-viral promoter. Promoters complying with this definition are available and are known to a person skilled in the art.
- The promoters cited in Claims 5 and 9 are merely arbitrary selections that are possibly already used to direct tTA expression in similar systems (see, for example, D2 with respect to the β -actin promoter or D4, page 4, lines 25-26 with respect to the PGK promoter).
- It would have been obvious to a person skilled in the art to select human tyrosine hydroxylase (Claim 9 b)) as a polypeptide of interest to be

synthesised in nerve cells (see also D2).

- The insertion of a nucleic acid into a nerve cell by means of an adenovirus (Claims 11 and 15) is merely one of the alternatives available to a person skilled in the art. Moreover, this technique is already used and described in D1.
- In the absence of any indication that any one of the features of Claims 1 to 19 leads to an unexpected and advantageous effect with respect to the entire scope of the claims, no inventive step (PCT Article 33(3)) can be recognised.
- It should be noted that, in the present application, the invention is illustrated only by means of a single example in which the PGK promoter is advantageously used. It is doubtful that the use of a promoter specifically expressed in muscle (β -actin, β -globin and MHC α) provides a solution to the technical problem, as formulated (the use of this system in the nervous system), or that any promoter, as defined in Claim 1, or even Claim 5, provides the desired result.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/FR 99/02752

VII. Certain defects in the international application

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

Contrary to the requirements of PCT Rule 5.1(a)(ii), the description does not indicate the relevant prior art disclosed in documents D1, D2 and D4, nor does it cite said documents.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/FR 99/02752

VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

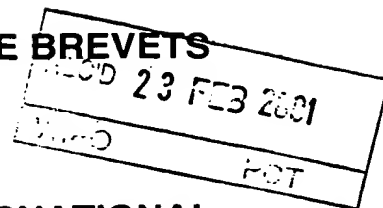
1. It should be noted that a feature following the term "preferably" (Claims 3, 4, 11 and 13) is not taken into consideration for the definition of the scope of the invention.
2. The wording of Claim 7 is considered to be unclear (PCT Article 6). It is unclear whether it is synthetic enzymes in general that are designated or only those involved in the synthesis of neurotransmitters. Moreover, all polypeptides, by virtue of the degradation thereof, are potentially trophic factors.
3. Claim 9 does not give any explicit indication with respect to the position of the third region relative to the other two regions. For more clarity, this claim could refer to Claim 3, of which it is an example.

TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

(article 36 et règle 70 du PCT)





| | | |
|--|--|--|
| Référence du dossier du déposant ou du mandataire ST 98036 | POUR SUITE A DONNER voir la notification de transmission du rapport d'examen préliminaire international (formulaire PCT/IPEA/416) | |
| Demande internationale n° PCT/FR99/02752 | Date du dépôt international (jour/mois/année) 09/11/1999 | Date de priorité (jour/mois/année) 09/11/1998 |
| Classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois classification nationale et CIB C12N15/861 | | |
| Déposant AVENTIS PHARMA S.A | | |

1. Le présent rapport d'examen préliminaire international, établi par l'administration chargée de l'examen préliminaire international, est transmis au déposant conformément à l'article 36.
2. Ce RAPPORT comprend 7 feuilles, y compris la présente feuille de couverture.
 - ☒ Il est accompagné d'ANNEXES, c'est-à-dire de feuilles de la description, des revendications ou des dessins qui ont été modifiées et qui servent de base au présent rapport ou de feuilles contenant des rectifications faites auprès de l'administration chargée de l'examen préliminaire international (voir la règle 70.16 et l'instruction 607 des Instructions administratives du PCT).

Ces annexes comprennent 3 feuilles.

3. Le présent rapport contient des indications relatives aux points suivants:

- I ☒ Base du rapport
- II ☐ Priorité
- III ☐ Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle
- IV ☐ Absence d'unité de l'invention
- V ☒ Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration
- VI ☐ Certains documents cités
- VII ☒ Irrégularités dans la demande internationale
- VIII ☒ Observations relatives à la demande internationale

| | |
|--|---|
| Date de présentation de la demande d'examen préliminaire internationale 16/05/2000 | Date d'achèvement du présent rapport 20.02.2001 |
| Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen préliminaire international:  Office européen des brevets D-80298 Munich Tél. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465 | Fonctionnaire autorisé Buchet, A N° de téléphone +49 89 2399 7401  |

RAPPORT D'EXAMEN PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL

Demande internationale n° PCT/FR99/02752

I. Base du rapport

1. Ce rapport a été rédigé sur la base des éléments ci-après (*les feuilles de remplacement qui ont été remises à l'office récepteur en réponse à une invitation faite conformément à l'article 14 sont considérées dans le présent rapport comme "initialement déposées" et ne sont pas jointes en annexe au rapport puisqu'elles ne contiennent pas de modifications (règles 70.16 et 70.17).*) :

Description, pages:

1-28 version initiale

Revendications, N°:

1-19 reçue(s) avec télécopie du 24/11/2000

Dessins, feuilles:

1/7-7/7 version initiale

2. En ce qui concerne la **langue**, tous les éléments indiqués ci-dessus étaient à la disposition de l'administration ou lui ont été remis dans la langue dans laquelle la demande internationale a été déposée, sauf indication contraire donnée sous ce point.

Ces éléments étaient à la disposition de l'administration ou lui ont été remis dans la langue suivante: , qui est :

- ☐ la langue d'une traduction remise aux fins de la recherche internationale (selon la règle 23.1(b)).
- ☐ la langue de publication de la demande internationale (selon la règle 48.3(b)).
- ☐ la langue de la traduction remise aux fins de l'examen préliminaire internationale (selon la règle 55.2 ou 55.3).

3. En ce qui concerne les **séquences de nucléotides ou d'acide aminés** divulguées dans la demande internationale (le cas échéant), l'examen préliminaire internationale a été effectué sur la base du listage des séquences :

- ☐ contenu dans la demande internationale, sous forme écrite.
- ☐ déposé avec la demande internationale, sous forme déchiffrable par ordinateur.
- ☐ remis ultérieurement à l'administration, sous forme écrite.
- ☐ remis ultérieurement à l'administration, sous forme déchiffrable par ordinateur.
- ☐ La déclaration, selon laquelle le listage des séquences par écrit et fourni ultérieurement ne va pas au-delà de la divulgation faite dans la demande telle que déposée, a été fournie.
- ☐ La déclaration, selon laquelle les informations enregistrées sous déchiffrable par ordinateur sont identiques à celles du listage des séquences Présenté par écrit, a été fournie.

4. Les modifications ont entraîné l'annulation :

**RAPPORT D'EXAMEN
PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR99/02752

- ☐ de la description, pages :
- ☐ des revendications, n°s :
- ☐ des dessins, feuilles :

5. ☐ Le présent rapport a été formulé abstraction faite (de certaines) des modifications, qui ont été considérées comme allant au-delà de l'exposé de l'invention tel qu'il a été déposé, comme il est indiqué ci-après (règle 70.2(c)) :

(Toute feuille de remplacement comportant des modifications de cette nature doit être indiquée au point 1 et annexée au présent rapport)

6. Observations complémentaires, le cas échéant :

V. Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration

1. Déclaration

| | |
|--|--|
| Nouveauté | Oui : Revendications 9, 11, 14-15, 18-19 |
| | Non : Revendications 1-8, 10, 12-13, 16-17 |
| Activité inventive | Oui : Revendications |
| | Non : Revendications 1-19 |
| Possibilité d'application industrielle | Oui : Revendications 1-19 |
| | Non : Revendications |

**2. Citations et explications
voir feuille séparée**

VII. Irrégularités dans la demande internationale

Les irrégularités suivantes, concernant la forme ou le contenu de la demande internationale, ont été constatées :
voir feuille séparée

VIII. Observations relatives à la demande internationale

Les observations suivantes sont faites au sujet de la clarté des revendications, de la description et des dessins et de la question de savoir si les revendications se fondent entièrement sur la description :
voir feuille séparée

Concernant le point I**Base du rapport**

Ce rapport est également établi sur la base des pages 1 à 3 (SEQ ID NO: 1) du listage de séquences.

Concernant le point V

Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration

Il est fait référence aux documents suivants:

- D1: Cancer Research
Vol. 57, 1997, pp 3339-3343
- D2: US 5 650 298 A
- D3: Neuroreport
Vol. 7, 1996, pp 1655-1659
- D4: WO 97 20463 A

1) **Nouveauté:**

- D2 fournit un système d'expression régulé par la tétracycline à introduire dans une cellule eucaryote par recombinaison homologue (revendication 11). Ainsi, le transactivateur tTA se trouve sous le contrôle spatial et temporel du promoteur du gène cible, par exemple celui de la β -actine (colonne 23, l 2). En aval se trouve un terminateur transcriptionnel (revendication 14) puis, dans la même orientation, un gène d'intérêt placé sous le contrôle d'un promoteur hCMV minimal et de séquences tetO (Fig. 13). Cette construction peut servir en thérapie génique sous forme d'un kit (colonne 27), par exemple pour la synthèse contrôlée de la tyrosine hydroxylase humaine (revendications 23 et 24).

- L'objet des revendications 1-8, 10, 12-13 et 16-17 est anticipé par le contenu de D2. De ce fait, les revendications 1-8, 10, 12-13 et 16-17 ne remplissent pas les conditions

énoncées à l'Article 33.2 PCT.

2) Activité inventive:

- La construction particulière décrite à la revendication 9, un vecteur viral contenant de tels systèmes d'expression (revendication 11) et leur utilisation dans des cellules nerveuses (revendications 14-15 et 18-19) ne sont pas explicitement décrites dans D2. De ce fait, les revendications 9, 11, 14-15 et 18-19 sont nouvelles (Article 33.2 PCT).

- Cependant, elles ne satisfont pas aux conditions énoncées à l'Article 33.3 PCT, en raison d'un manque d'activité inventive:

- D1 présente un nouveau système d'expression vectoriel, régulé par la tétracycline et présentant un large spectre d'hôtes (p 3342, 1er paragraphe de la Discussion). Celui-ci a pour avantage d'être porté par un plasmide unique de type adénovirus et de conduire à la synthèse d'une quantité plus faible du transactivateur tTA (p 3340, 1er paragraphe des Résultats), toxique à haute dose pour la cellule. Pour cela, le gène *tTA* est placé sous le contrôle d'un promoteur viral hCMV modifié, c'est à dire présentant une activité transcriptionnelle inférieure à celle du promoteur natif (p 3340, Fig. 1). En aval, la construction porte une séquence de polyadénylation servant de terminateur (p 5, l 14-20) puis, dans la même orientation, un gène d'intérêt placé sous le contrôle d'un promoteur hCMV minimal et des sites de fixation du transactivateur tTA (tetO). Des cellules eucaryotes (hématopoïétiques, de la moelle épinière...) infectées par un adénovirus recombinant, synthétisent le polypeptide d'intérêt, par exemple une cytokine (p 3341, Fig. 2). L'administration d'une dose de 100 ng/ml de tétracycline aboutit à la répression réversible de cette synthèse. Ce système offre des perspectives en thérapie génique, par exemple dans le traitement du cancer (p 3339, Abstract).

- D3 rapporte l'expression fructueuse, dépendante de la tétracycline, de la luciférase dans des cellules neurales du rat. La construction comporte le transactivateur tTA sous le contrôle du promoteur viral fort hCMV ainsi que le gène rapporteur de la luciférase sous le contrôle d'un promoteur hCMV minimal et de 7 séquences tetO, les deux unités transcriptionnelles étant séparées par une séquence UMS et orientées dans la même direction (p 1656, Fig. 1). Cette technique offre des perspectives pour l'expression de gènes thérapeutiques dans le système nerveux central (p 1665, résumé). Cependant,

les auteurs indiquent que la construction actuelle présente un inconvénient ("shut down of gene expression"), probablement lié à l'utilisation du promoteur viral hCMV pour le contrôle de la transcription du transactivateur tTA (p 1658, Discussion).

- La contribution de la présente demande par rapport à D3, considéré comme l'état de la technique la plus proche, est l'utilisation d'un promoteur alternatif contrôlant l'expression de tTA dans un système d'expression à utiliser dans des cellules nerveuses.
- D1 préconisait déjà de réduire l'expression du transactivateur tTA, par exemple en la plaçant sous le contrôle du promoteur hCMV atténué.
- D3, lui, soulevait le problème de l'utilisation d'un promoteur viral, tel que hCMV, dans des cellules nerveuses.
- Au vu de D1 et D3, il aurait été évident de choisir un promoteur non-viral modéré. Des promoteurs répondant à cette définition sont disponibles et connus de l'homme du métier.
- Les promoteurs cités aux revendications 5 et 9 ne sont que des choix arbitraires, éventuellement déjà utilisés pour diriger l'expression de tTA dans des systèmes comparables (voir par exemple D2 pour le promoteur de la β -actine ou D4: p 4, l 25-26 pour le promoteur PGK).
- Le choix de la tyrosine hydroxylase humaine (revendication 9 b) comme un polypeptide d'intérêt à synthétiser dans les cellules nerveuses aurait été évidente pour l'homme du métier (voir aussi D2) .
- L'introduction d'un acide nucléique dans une cellule nerveuse grâce à l'utilisation d'un adénovirus (revendications 11 et 15) n'est qu'une des alternatives offertes à l'homme du métier. Cette technique est par ailleurs utilisée et décrite dans D1.
- En l'absence de toute indication que l'une des caractéristiques des revendications 1 à 19 entraîne un effet inattendu et avantageux pour l'étendue entière des revendications, aucune activité inventive (Article 33.3 PCT) ne peut être reconnue.
- Il est à noter que l'invention n'est illustrée dans la présente demande que par un seul exemple dans lequel le promoteur PGK est avantageusement utilisé. Il est mis en doute que l'utilisation d'un promoteur spécifiquement exprimé dans le muscle (β -actine, β -globine et MHC α) soit une solution au problème technique tel que formulé (utilisation

de ce système dans le système nerveux) ou que tout promoteur, tel que défini dans les revendications 1 voire 5, donne le résultat recherché.

Concernant le point VII**Irrégularités dans la demande internationale**

Contrairement à ce qu'exige la règle 5.1 a) ii) PCT, la description n'indique pas l'état de la technique antérieure pertinent exposé dans les documents D1, D2 et D4 et ne cite pas ces documents.

Concernant le point VIII**Observations relatives à la demande internationale**

- 1) Il est à noter qu'une caractéristique introduite par l'expression "de préférence" (revendications 3, 4, 11 et 13) n'est pas prise en considération pour la définition de l'étendue de l'invention.
- 2) La formulation de la revendication 7 est considéré comme peu claire (Article 6 PCT): Il n'est pas clair si les enzymes de synthèse, en général, sont désignées ou seulement celles impliquées dans la synthèse des neurotransmetteurs. D'autre part, tout polypeptide via sa dégradation est potentiellement un facteur trophique.
- 3) La revendication 9 ne donne pas d'indication explicite sur la position de la troisième région par rapport aux 2 autres. Pour plus de clarté, cette revendication pourrait faire référence à la revendication 3 dont elle est une exemplification.

REVENDEICATIONS

1. Acide nucléique caractérisé en ce qu'il comprend :

a) une première région comprenant un acide nucléique codant pour le transactivateur du système de régulation par la tétracycline (tTA) sous contrôle d'un promoteur non-viral modéré, et,

b) une deuxième région comprenant un acide nucléique d'intérêt sous contrôle d'un promoteur sensible au tTA,

et en ce que les deux régions a) et b) sont disposées dans la même orientation transcriptionnelle

2. Acide nucléique selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il comprend, en outre, une troisième région c), disposée entre les deux régions a) et b), limitant les interférences transcriptionnelles entre les régions a) et b).

3. Acide nucléique selon la revendication 2, caractérisé en ce que la région c) comprend un terminateur transcriptionnel, de préférence une séquence UMS.

4. Acide nucléique selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que, dans la région a), le promoteur modéré est un promoteur cellulaire, de préférence constitutif au tissu spécifique.

5. Acide nucléique selon la revendication 4, caractérisé en ce que le promoteur cellulaire modéré est choisi parmi le promoteur des gènes PGK, DHFR, EF1 α , β -actine, β -globine et MHC α .

6. Acide nucléique selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que, dans la région b), l'acide nucléique d'intérêt est un acide nucléique codant pour une protéine ou un polypeptide d'intérêt.

7. Acide nucléique selon la revendication 6, caractérisé en ce que la protéine ou le polypeptide d'intérêt sont choisis parmi les neurotransmetteurs ou leurs précurseurs ou enzymes de synthèse et les facteurs trophiques.

8. Acide nucléique selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que, dans la région b), le promoteur est un promoteur fonctionnel dans les cellules mammifère.

9. Acide nucléique caractérisé en ce qu'il comprend :

5 a) une première région comprenant un acide nucléique codant pour le transactivateur du système de régulation par la tétracycline (tTA) sous contrôle du promoteur du gène PGK, et,

b) une deuxième région comprenant un acide nucléique codant pour la tyrosine hydroxylase humaine sous contrôle d'un promoteur CMV minimal,
10 modifié de façon à comporter 1 à 10 séquences tetOp,

c) une troisième région comprenant la séquence UMS,

et en ce que les deux régions a) et b) sont disposées dans la même orientation transcriptionnelle.

10. Vecteur comprenant un acide nucléique selon l'une quelconque des revendications 1 à 9.
15

11. Vecteur selon la revendication 10 caractérisé en ce qu'il s'agit d'un vecteur viral, de préférence un adénovirus.

12. Cellule comprenant un acide nucléique selon l'une quelconque des revendications 1 à 9 ou un vecteur selon la revendication 10.

20 13. Cellule selon la revendication 12 caractérisée en ce qu'il s'agit d'une cellule mammifère, de préférence humaine. α

14. Cellule selon la revendication 13 caractérisée en ce qu'il s'agit d'une cellule nerveuse.

15. Cellule nerveuse génétiquement modifiée par un adénovirus recombinant
25 comprenant un acide nucléique selon la revendication 9.

16. Composition comprenant des cellules selon l'une des revendications 12 à 15.

17. Utilisation d'un acide nucléique selon l'une des revendications 1 à 9 ou d'un vecteur selon la revendication 10 ou d'une composition selon la revendication 16, pour la préparation d'une composition destinée à exprimer un acide nucléique d'intérêt in vivo.

18. Utilisation d'un acide nucléique selon l'une des revendications 1 à 9 ou d'un vecteur selon la revendication 10 ou d'une composition selon la revendication 16, pour la préparation d'une composition destinée à exprimer un acide nucléique d'intérêt dans le système nerveux in vivo.

19. Utilisation d'un acide nucléique comprenant :

a) une première région comprenant un acide nucléique codant pour le transactivateur du système de régulation par la tétracycline (tTA) sous contrôle d'un promoteur modéré, et,

b) une deuxième région comprenant un acide nucléique d'intérêt sous contrôle d'un promoteur sensible au tTA,

les deux régions a) et b) étant disposées dans la même orientation transcriptionnelle, ou d'un vecteur ou d'une composition comprenant un tel acide nucléique, pour la préparation d'une composition destinée à exprimer ledit acide nucléique d'intérêt dans le système nerveux in vivo.